

A veleszületett dongaláb patogenezisének kutatása

Előzmények

Az idiopathiás dongaláb az egyik leggyakoribb gyermekkori orthopédiai megbetegedés, az alsó végtag distális részének complex veleszületett deformitása, amely a csontok, ízületek, ízületi tokok, izmok, vérerek kóros fejlődése következtében jön létre. A láb normális fejlődésében a zavar a terhesség első trimeszterében következik be (prenatalis ultrahanggal legkorábban a terhesség 12. hetében detektáltak)¹, és születéskor már ízületi kontrakturákban, csontdeformitásokban nyilvánulhat meg. A congenitális dongaláb létrejöhet complex malformatiós syndroma részeként primer genetikai okok ill. kromoszóma aberráció (21-es trisomia) következtében, neuromusculáris betegségek pl. congenitális myopathia (central core betegség), congenitális izomdystrophia (Fukuyama féle izomdystrophia), hereditær sensomotoros neuropathia, spina bifida vagy arthrogryposis multiplex congenitalis részeként, magzati periódusban mechanikai okokból pl. oligohydramnion következtében, de leggyakoribb az ismeretlen okú, más eltéréssel nem járó, izolált, ún. "idiopathiás" dongaláb. Az orthopédiai kezelés célja a láb funkcionális és alaki helyreállítása. A klinikusok többsége egyetért abban, hogy a kezdeti kezelés konzervatív, a születés utáni 1.-2. héten célszerű elkezdni, a kezelési módok azonban változatosak. Eredménytelenség esetén a sebészi kezelés (posteromedial release) jön szóba, optimálisan 5-12 hónapos korban, de mindenképpen 3 hónapos kor után. Mivel bizonyos fajokban és családokban a dongaláb nagyobb %-ban fordul elő², a kutatók úgy gondolják, hogy az idiopathiás dongaláb kialakulásában a genetikának fontos oki szerepe van, és a hatékony kezelés az oki terápiától és a prevenciótól várható³. Újabban a CASP10 gén szerepét vizsgálják⁴.

Célkitűzés

Az idiopathiás vagy másnéven veleszületett struktúrális dongaláb kórereditére vonatkozó ismeretek gyarapítása - modern klinikai vizsgálómódszerek és komplex morfológiai módszerek alkalmazásával, azzal a céllal, hogy a megszerzett új ismereteket a differenciáldiagnosztikában, a kezelési terv kialakításában és a prognózisban hasznosítsuk.

Kutatási terv

Az eredetileg 4 éves futamidőre tervezett kutatás alatt 100 idiopathiás és kontrollként 25 "neuromusculáris" dongalábas biopsziás minta vizsgálata lett tervbe véve.

Mivel a myelodysplasiás dongalábú csecsemők száma a korai terhességi szűrővizsgálatok bevezetésével annyira lecsökkent lecsökkent, hogy a kutatás éve alatt nem kezeltünk ilyen elváltozással született csecsemőt, a kontroll csoportba az arthrogryposis multiplex congenita következtében kialakult dongalábas betegek kerültek.

A klinikai fejlődésneurológiai status felvétele és a klinikai vizsgáló ómódszerek (se CK, koponya UH, CT/MRI, EEG, kiváltott válaszok) alkalmazása a Svábhegy

Fejlesztésneurológiai Osztályon, a dongalábás csecsemők esetleges somatomentális fejlődéskésésének a kiderítése illetőleg szükség esetén klinikai követése céljából.

Orthopédiai vizsgálati protokoll, konzervatív kezelés, nem kellő mértékben reagáló dongaláb esetén műtét, műtét utáni klinikai követés, retrospektív analízis (SE Orthopédiai Klinika Gyermekosztály).

EMG/ENG, CT/MRI (Heim Pál Gyermekosztály) az idiopathiás és neuromusculáris aetiológiájú dongalábak szűrése.

Műtét alatt vett szövetminták elemzése standard hisztokémiai és elektronmikroszkópos módszerekkel, számítógéppel vezérelt morfometriai analysisseel, szükség szerint kiegészítve immunhisztokémiai, és molekuláris genetikai módszerekkel.

ANYAG ÉS MÓDSZER:

Fejlesztésneurológiai vizsgálat:

6 syndromás AMC-s újszülöttnél és 5 syndromás AMC-s csecsemőnél történt (a kórházi vizsgálatba az anyák akkor egyeztek bele, amikor ők is érezték, hogy a gyermekükkel valami baj van). Látás-, hallásszabályzás vizsgálat, izomtónus eloszlás szabályozás és mozgásszabályozás vizsgálat, mozgásdinamika, éberségi szint, aktivitási szint, alvás-ébrenlét vizsgálat, táplálkozásmagatartás vizsgálat. Chromosoma vizsgálat, koponya UH, szükség szerint EEG, vizuális kiváltott válasz (VEP), agytörzsi akusztikus kiváltott válasz (BAEP), esetenként CT/MRI, se CK, LDH vizsgálatok történtek.

Orthopédiai vizsgálat:

A SE Orthopédiai Klinikán 1998 és 2002 között kezelésbe vett 45 idiopathiás dongalábás és 8 AMC-s dongalábás beteg, valamint az I. Női Klinika PIC Osztályán ill. a SE I. Gyermeklinikáján fekvő 7 AMC-s beteg került be a vizsgálati kohortba. Minden Orthopédiai Klinikán vizsgálatba bevont betegnél adatlapot vettünk fel, amely tartalmazta a familiáris anamnesist, a rizikófaktorokat, a terhességi történetet (Apgar score, születési súly) és a perinatalis pathológiát. A dongalábak súlyossági fokozatának megítélésére a funkciót előnyben részesítő Dimeglia-féle osztályozást^{5,6} alkalmaztuk. A felső ugróízületben a flexiós kontraktúra mértékét, a subtalaris ízületben a sarok varus helyzetét, az előláb adductusát illetve supinációját, a sarok és az előláb flexiós viszonyát. A 20 pontos értékeléssel az elváltozások primer korrigálhatóságát vizsgáltuk, így a dongalábakat négy csoportba soroltuk (I. táblázat).

1. csoport: jóindulatú, gyakorlatilag passzíve teljesen korrigálható, a tartási rendellenességnek tartott dongalábak. 0-5 pont. Grade 4.
2. csoport: Az ide tartozó lábak részben korrigálhatók konzervatív kezeléssel, de kisebb maradandó eltérések műtétet igényelnek. 6-10 pont. Grade 3.
3. csoport: A deformitásokat csak részben lehet konzervatív kezeléssel megoldani, feltétlenül szükséges műtét. 11-15 pont. Grade 2.

4. csoport: Ide soroljuk azokat a merev dongalábakat, melyeket leginkább egyéb fejlődési rendellenességek mellett találunk, csak műtéttel javíthatók, ritkán érhető el jó alaki illetve funkcionális eredmény. 15-20 pont. Grade 1.

Az Orthopédiai Klinikán vizsgálatba bevont idiopathiás dongalábas betegek 53%-ánál (24 beteg), AMC-s betegek 100%-ánál (8 beteg) került sor hátsó mediális és laterális felszabadító műtetre.

EMG, ENG

A vizsgálatokat AMPLAID 12 EMG -vel illetve Keypoint/DANTEC/ EMG-vel végeztük standard körülmények között. Az elvezetés felületi tűelektrodával történt, az ingerlés a szokásos 0,1-0,2 ms tartamú, 1-100 mA erősségű négyszögimpulzussal történt a n.peroneuson, n.tibialison illetve a n.medianuson lehetőség szerint mindkét oldalon. Supramaximális ingert alkalmaztunk (max. inger 115-130% \times a). Vizsgáltuk az ideg ingerületvezetési sebességét, a potenciál amplitudóját, a tartamát és a motoros latenciaidőt a csecsemő életkori standard alapján⁷. Szenzoros idegvezetést nem minden esetben tudtunk végezni, EMG vizsgálat sem történt minden esetben, a gyerekek ellenállása miatt, sokszor a szülő kérésére.

Biopszia:

A biopsziás kohortba az Orthopédiai Klinikán műtött két betegcsoporton kívül, akiknek életkora a mintavételnél 5-16 hónap között volt, bevettük a 6 AMC-s újszülöttet, és 6 korábbi esetünket (2-13 éves korban műtött idiopathiás és AMC dongalábas), hogy a biopsziás minták elemzéséhez életkori összehasonlításunk legyen. Így összesen 44 eset izom- és idegbiopsziájára került sor. A idegmintákat 11, korábbi biopsziás anyagainkból válogatott életkori fiziológiás idegmintával hasonlítottuk össze.

Beteg:	<1 hó	2 hó	3 hó	5 hó	6 hó	7 hó	8 hó	9 hó	10 hó	11 hó	12 hó	14 hó	16 hó	2 év	4-5 év	9 év	11-13 év	
Donga				2	5	1	4		4	1	3	2	2	1	2	1	1	=29
AMC	6			2	1	2	2	2									1	=15
Normál	1	1		1	1			1		1	1	1	1		1	1		=11

Az izommintákat az izomhasból vettük, az izom-ín átmenettől számított 1,5-3 cm-en belül. Az ideg mintavételhez a nervus suralist hosszanti irányban megfeleztük, majd kb. 3-4 mm-es darabot vágunk ki belőle. 102 izom és 34 nervus suralis minta vételére került sor az alábbiak szerint. Betegenként átlag 3 izomminta vétel történt, esetenként 4, elvétele csak 1 vagy 2.

minta	m.vast.l	m.gastr	m.tib.an t	m.tib.post	m.peron.l	m.fl.hall.l	m.ext.h	n.suralis	
Donga		17		8	28	25	2	26	80+26
AMC	4	8	2	2	3	2		8	22+8

A szövetminták morfológiai vizsgálata az OPNI Neurobiopsziás Központjában történt. Az izomrostokból 6 μm vastag cryostat metszeteket készítettünk és ezeken standard hisztokémiai festéseket és elektronmikroszkópos vizsgálatot végeztünk. Immunhisztokémiai vizsgálatokra 10 μm vastag cryostat metszeteket vizsgáltunk. A következő proteinek elleni ellenanyagokat használtuk α , β , γ , δ -sarcoglycan, α -dystroglycan, merozin, laminin, utrophin. Az izomminták morfometriai elemzéséhez fényképnagyítós módszert alkalmaztunk. Az idegmintákat 2,5%-os glutáraldehydben fixáltuk és Durcupánba ágyasztuk, elektronmikroszkóppal vizsgáltuk. Az ideg félvékony metszeteit fénymikroszkópos-video-számítógépes morfometriai technikával⁸, CAMoN3 szoftver segítségével elemeztük. Az arteficiálisan károsodott (myelin distortiót szenvedett) idegeket a vizsgálatból kizártuk. Minden idegben legalább 0,04-0,05 mm^2 areát vizsgáltunk. A densimetriánál x40 objektívet, a gaugingnél x60 objektívet használtunk. Az axonátmérőt, a rostátmérőt, a velőhüvely vastagságát és az axonkörfogathoz kalkulált g-ratiót a velőhüvelyes rostok belső és külső átmérőjének kétpontos jelölésével mértük a képernyőn. A myelin vastagság kiértékeléséhez legalább 500 velősrótot mértünk meg minden idegben.

EREDMÉNYEK

Fejlődésneurológiai és annak alapján kiválasztott vizsgálatok (1.táblázat):

Az újszülötteknél jelentős volt a dongaláb és polyhydramnion együttes előfordulása⁹. Az elvégzett chromosoma vizsgálatot nem jelöltük külön, mert rendellenességet nem találtunk. Központi idegrendszeri dysgenesisre két esetben, spinális fejlődési hibára egy esetben (Goeltz sy) derült fény. Egy betegnél Freeman-Sheldon syndroma igazolódott. Congenitális neuromusculáris betegségekre (CMD) 3 esetben gondoltunk.

Elektrofiziológiai vizsgálat (2. táblázat):

A vizsgálat idején az átlag életkor:

1. Műtött, morfológiailag vizsgált csoportban:	17 hó
2. Vizsgálatba bevont egyéb nem műtött dongalábak:	8 hó
3. Kontroll arthrogryposis:	5 év

A kevés vizsgálatból statisztikai számítást nem célszerű végezni, de tájékozódásként mégis elvégeztük. A műtött, morfológiailag vizsgált csoportban: a betegek 30%-ának voltak kóros motoros idegvezetés sebesség értékei (n.peroneus). 1 esetben érintett volt mindkét láb. A MUP amplitudójának csökkenését a betegek 66%-ában észleltük, ami axonvesztést jelez. Ez látszik a dongalábak neurogén „érintettségének” érzékenyebb mutatójának.

A vizsgálatba bevont egyéb nem műtött dongalábak csoportjában a betegek 26,6%-ának voltak kóros motoros idegvezetési sebesség értékei, de a MUP amplitudójának csökkenését a betegek 75%-ában észleltük.

A kontroll arthrogryposis csoport 66%-ánál nem tudtunk motoros sebességet mérni sem a n.peroneuson, sem a n.medianuson. A betegek 25%-ban jelentősen csökkent a motoros idegvezetési sebesség és a MUP amplitudója is¹⁰.

EMG vizsgálat (m.tibialis ant, m.quadriceps fem, esetenként m.abd.pollicis brevis) : a betegek 31%-ánál mutatott kóros eltéréseket, egy eset kivételével neurogén laesio volt látható.

Biopsziás hisztokémiai vizsgálat:

1.) Idiopathiás dongalábás izomminta (3. táblázat).

79 minta volt szövettanilag értékelhető. Az ATP-vel festett mintákban a rostméretet és a rosttípust elemeztük: 1./ Rostméret szerint megkülönböztettünk újszülött méret alatti (<10um), életkori normális (14-20 um) és nagy méretű (>25) rostokat, és ahol lehetett, %-os arányt számítottunk. 2./ Rosttípus szerint: az izomra jellemző fiziológiás rosttípus arányoktól való eltérést vizsgáltuk. Számításaink fényképes nagyításokon mért értékeken alapulnak.

1. Minden izomfajta érintett volt rostméret és rosttípus szerint, kivéve 11% m.gastrocnemiust, 12% m.tibialis posteriort, 14% m.peroneus longust és 16% m. flexor hallucis longust. Az egyes izomfajtákban változatos szintű az atrophia. Az I.típusú rostatrophia >50%:

M.gastrocnemius	M.tibialis post.	M.peroneus long.	M.flexor hallucis longus
55%	62%	46%	44%

100%-os (mindkét rosttípusra kiterjedő) atrophiat két gastrocnemius és két m.tibialis posterior mintában találtunk. I.-II.típusú rostatrophiat az izmok 16%-ban láttunk. A II. típusú atrophia a rostok 10-50%-át érintette. A rostok 38%-ában társult az I.típusú atrophiahoz II.típusú rost hypertrophia. Az atrophias rostok nagyobb aránya a m.gastrocnemiusra és m.tibialis posteriorra volt jellemző, a II.típusú hypertrophia nagyobb aránya a m.peroneusra, de főként a m. flexor hallucis longusra. Feltűnt, hogy a mintákban I. típusú hypertrophias rostok nincsenek. Feltűnő volt a II.típusú hypertrophias rostokban a II.C típusú rostok megszaporodása.

2. A rosttípusban bekövetkező változásokban is markáns eltérés volt tapasztalható. A gastrocnemius minták 94%-ában I.típusú rosttípusútalálattunk 64%-tól a teljes, 100%-os dominanciáig. A peroneus longus minták többségében fiziológiás I.-II. rostarány, 28%-ában II. rosttípusútalálattunk, 7%-ában I.típusú rosttípusútalálattunk volt látható. Mivel a m.tib.post. és a m. flexor hallucis longus fiziológiás rosttípus arányára nincs az irodalomban adat, nem tudjuk, hogy talált % értékek normálisak vagy kórosak.

Esetenként nagyon súlyos atrophia és durva fenotípus eltérés demonstrálható, amit a táblázatban vastag betűvel jelöltünk. Egy beteg m.gastrocnemiusában kifejezett volt a neurogén I.,II. típusú atrophia, és a reinnerváció (I. típusú rostatrophia), mint az AMC-s dongalábákban.

EM: Az izomrostok ultrastruktúrája ép, csupán néhány rostban Z-csík streaming, myofibrilláris desorganisatio, satelita-sejt apoptosis, egy-egy izomrost helyén üres basalmembran látható. 4 beteg mintájában (1 m.gastr., 2 m.peroneus, 1 m.tib.post) a neuromusculáris junctióban az idegvégződés atrophias, egy junctióban több

idegvégződés van (1. kép.). A véglemez junctionális redői normálisak. Egy mintán belül ép és kóros idegvégződés is előfordul.



Összegezve: A vizsgált izomfajták mindegyike érintett. Több mint a felükben jelentős az I.típusú rostatrophia. 8% izom volt szövettanilag ép. A gastrocnemius minták 94%-ban és a peroneus longus minták 35 %-ában az 1,2 fenotípus arányváltozást mutat. A gastrocnemius mintákban az I.típusú rostok, a peroneus longus mintákban a II.típusú rostok kerültek túlsúlyba. EM-val igazoltuk, hogy a „kis” rostok nem atrophiasak, hanem hypotrophiasak. A hypotrophias rostok neuromusculáris junctiójában több idegvégződés van, melyek részlegesen sorvadtak. Denervationnak nincs jele, kivéve egy beteg izmát, ami „kilóg” a dongalábas szövettani elváltozások sorából.

2.) AMC-s izomminta (4. táblázat).

Egy újszülöttkori lethális AMC-s izomban a centrális izommagok jelenléte congenitális myotoniás izomdystrophiára utalt. Immunhisztokémiai vizsgálattal két betegnél vetettük fel a Fukuyama féle congenitális izomdystrophia gyanúját. A spinális izom atrophia SMN1 génjében egyik betegnél sem volt mutáció. Egy betegnél SMARD (spinalis izomatrophia respiratoricus distress) gén irányában folyik a molekuláris genetikai vizsgálat. A myotoniás izomdystrophia DMPK1 génjének, illetve a Fukuyama féle izomdystrophia génjeinek (FKRP, POMT, POMTGmT) molekuláris analízise folyamatban van.

A dongalábbal műtött AMC-s betegek egy vagy két lábizmában részleges fasciculus hiányt, súlyos neurogén laesio jeleit találtunk (csoportos 1,2 atrophia), valamint regenerációt (csoportos 1 típusú rostátépülés) ill. zsíros, kötőszövetes reparáció jeleit. Az EM kép is ennek megfelelő volt.

N. suralisok elektronmikroszkópos vizsgálata:

Az ép újszülött idegben nem láttunk promyelinizált rostokat, az 5 hónapos csecsemők velősróstaik többsége még kicsi volt és a velőshüvelyek relatíve vékonyak. 5 -16 hónapos mintákban a rostok mérete jelentősen megnőtt, a

velőhüvely progresszívebben vastagodtak, mint az axonok, amit feltűnően sok redundáns (túl bő) velőhüvely jelzett.

A dongalásbas surális minták némelyikében velősrost ritkulás sejthető. Egy roma csecsemőben a szokásosnál kissé kifejezettebb hypomyelinisatiót észleltünk (már látszik az elváltozás recidívája). Egy esetben súlyos axonsorvadást találtunk. A többi esetben a lelet az ép ideg ultrastruktúrájával megegyezett.

Egy familiáris (anyja dongalásbas (?) roma) syndomás AMC-s csecsemőjének surális mintájában axon degeneratiót találtunk, itt korai axonális öröklődő sensomotoros neuropathia (HMSN) lehetősége vetődött fel. Egy újszülöttnél axon és myelin fejlődési zavar látható, egyes axonok helyén flocculáris anyag van, vmint ép axon látható myelin nélkül, miközben a Schwann-sejt üres velőshüvelyeket tartalmaz.

N. suralisok morfometria vizsgálata:

Denzimetria:

Öt ép felnőtt suralisból referencia sorozatot hoztunk létre. A CAMoN-nal mért felnőtt ideg densitás: 15.000-11.000/mm². 10 ép csecsemő-suralisból életkor szerinti referencia sorozatot hoztunk létre. 0-14 hó között az ideg densitás normál értéke: 26.000-18.000 mm². A két betegcsoportban densitometriás vizsgálatot végeztünk és az eredményt az ép csecsemő-suralisok eredményeivel hasonlítottunk össze (ld. táblázat). Az idiopathiás dongalásbas nervus suralisok >50%-ában a velősrostok száma <18.000/mm².

életkor	Normál	AMC	Donga
<1 hó	N1 25.526	A1 24.834 A2 22.850 A3 21.790 A4 19.875	
2 hó	N2 23.658		
4 hó	N3 23.000		
5 hó		A5 19.017 A6 19.487	D1 22.324C
6 hó		A7 20.488	D2 14.984 D3 21.714
7 hó		A8 14.367	D4 20.561
8 hó		A9 18.283	D5 22.434
9 hó		A10 22.193 A11 24.799	
10 hó			D6 17.204 D7 12.791 D8 18.844
11 hó			D9 16.994
12 hó	N4 20.856		D10 13.698 D11 15.897 D12 22.858
14 hó	N5 21.168		D13 13.346

15 hó			D14 16.561
16 hó			D15 13.608 D16 20.000
4.5 év	N6 14.215		
11 év	N7 10.210		

Gauging:

Az ép csecsemő n. suralisokban (1.,2. grafikon) az összdensitás a felnőttkorihoz képest jelentősen nagyobb, a felnőttkori érték kb.150%-ának felel meg. A vizsgált életkori tartományokban ez az érték lényegesen nem csökken. A rostok túlnyomó többsége kezdetben vékony velősróst (SMF). Az újszülött SMF densitása a felnőttkori SMF háromszorosa (300%), a velősróst (MF) densitás kétszerese (200%) a felnőtt normálisnak. A vékony velősróstok densitása a korral fokozatosan csökken, 1 éves korban már csak az újszülöttkori érték fele (150%), ami még mindig jelentősen több, mint a felnőttkori referenciaérték. A vastag velősróst (LMF) densitás 5 hónapos korra eléri a felnőtt 80%-át, 12 hónapos korra a 100%-át, de a rost "vastagsága" abszolút értékben még sokáig alatta marad a felnőttének. A MF felszín és myelin felszín is a korral lassan emelkedik, újszülöttnél 40%, 2 hónapos korban 60%, 1 éves kortól már csak lassan emelkedik a felnőtt szintig. Ép idegben az MF area és a myelin area egymással összhangban nő. A g-ratio ($d/D=0,5$) újszülött kortól egy éves korig konstansan 120%. Ez a hypomyelinisatio csecsemőkorban fiziológias, a SMF-ek számbeli többségével és a vastag velősróstok myelinjének relatív vékonyságával magyarázható.

Az AMC-s n.suralisok (3.,4. grafikon): normálisnak tekinthetők, mert az újszülött AMC-sek SMF densitása alig kevesebb, mint az ép újszülötteké, az LMF densitás 5 hónapos korban eléri a 80%-t. Kivétel az A5-Freeman-Sheldon syndroma.

Az idiopathiás dongalábas n. suralisokban (5.6. grafikon): a korral járó változások egészében sokkal szabálytalanabbak. Az összdensitás a normális arányoktól nagyobb mértékben eltér. Mivel a fejlődés normális variációi szélesek, nem tudjuk, hogy ez az átlagtól eltérés az adott időpontban kóros-e.

A klinikai és morfológiai összehasonlító vizsgálatok (5.táblázat):

Több esetben jól megfelelt a Dimeglio féle értékek nagyságrendje és a pathológiai változások jellege. Mivel hol az adatok, hol az izomminták hiányosak, statisztikai számítást nem érdemes végezni, hogy van-e signifikáns összefüggés a láb funkciója és az egy vagy több lábizomban észlelt patológiai elváltozás súlyossága között.

MEGBESZÉLÉS:

Az újszülöttkori lethális AMC nagyon heterogén csoport. Az izombiopszia jelentősége a legtöbb esetben annyi, hogy segítségével a myopathiát kizárhatjuk. A szövettani vizsgálat egy betegnél engedett meg bővebb distinctiót (centrális magok → myotoniás izomdystrophia gyanú), a génmutáció igazolásának prenatális jelentősége van. Minden esetben immunhisztokémiai és genetikai módszerekkel folytattuk a vizsgálatot. Minden más csecsemő AMC-ben az izomban szövettanilag típusos neurogén izomatropiát találtunk és clusterekbe tömörült reinnervált 1

rostcsoportokat, ami intrauterin mellsőszarvi motoneuron károsodás és a károsodott neuronok szerepét átvevő egészségesen működő motoros egységek jelenlétére utal.

Morfológiai vizsgálataink alapján egyértelmű volt, hogy az idiopathiás dongalábak izmai is "neurogénnek". Neurogén természetük más, mint az AMC-s dongalábaké. Denervationnak nincs jele. A láb minden izomfajtájában található elváltozások, ami nem tulajdonítható sem a túlnyújtásnak (peroneusok), sem a rövidülésnek (m. tibialis post.).

A világirodalom a 1970-s évektől kezdve, a hisztokémiai és elektronmikroszkópos módszerek bevezetése óta foglalkozik a dongalábak neuromusculáris vizsgálatával^{11,12,13,14}. Isaacs és Handelsman tették egyértelművé, hogy a dongaláb neurogén eredetű születési defektus. Handelsman fogalmazta meg azt a véleményt, hogy az I. típusu rostok predominanciája (>90%) jelzi a dongaláb neuromusculáris természetét¹⁵. Mások az agonista, antagonistá izomcsoportjainak imbalance-ának is nagy jelentőséget tulajdonítottak a predominancia kialakulásában^{15, 16}. Többségi vélemény szerint az I. predominancia nem a kezelés következménye, mert az immobilitás vagy a nyújtás nem változtatja meg¹⁷. Megfigyeléseink szerint a csecsemőknél a m. gastrocnemiusban (flexor csoportban) az I. rostok aránya nagy, de nem típusosan predomináns. A peroneusok 28%-ára pedig fordítva, a II. típusu rostok túlsúlya jellemző. Olyan neuromusculáris betegség nincs, amely csak egy izomra igaz, tehát a dongaláb természetének lényegét nem a rosttípus arányok változásában kell keresni. Számos szerzővel egyetértve a mi véleményünk szerint is: az a tény, hogy mindegyik csoportban van elváltozás, megfelel annak a klinikai képnek, hogy az egész lábszár hypotrophiás.

Megfigyelésünk szerint a distális lábizmokban nagyon sok <12µm (újszülött méret alatti) rost van. Megfigyeltünk kis rostokat az idősebbek mintájában is, tehát ezek nem nőnek az életkorral. Feltűnően sokszor társult az I. atrophia II. hypertrophiával. Az elektronmikroszkópos vizsgálattal megfigyeltük, hogy ezek a rostok nem „atrophiasak”, hanem hypotrophiasak. Azt is megfigyeltük, hogy a hypotrophias rostok beidegződése patológiás. Ezért a fő baj nem az izmokban van. A rosttípusok kialakulása az idegellátás függvénye. Az excitátoros ingerület által előidézett kontrakció határozza meg a rostok metabolikus különbségét (enzim összetételét, a festési tulajdonságokat), és van egy másodlagos trophicus hatása is, amely a rostok mozaikos eloszlását és méretét szabályozza. Az I.-II. rostok méretaránytalanúságát már a dongalábba születéskor is megfigyelték^{18,19}. Mindez tehát korai motoros ideg ellátási zavarára utal.

A normális izomfejlődésben a 18. gestatiós hétig az izmok egyforma, differenciálatlan II.C rostok²⁰. A II.C rostok az I., II.A és II.B rostok precursorai. A 20-28. héten már néhány I. típusu rost felismerhető, a mozaikos minta a 28. hét után látható²¹. Születéskor, amikor a differenciálódás még nem teljes, még 15-20%-ban jelen vannak a II.C rostok. Az 1. évben az I.rostok száma folyamatosan nő, a II.C rostok alakulnak át I. típusu rostokká. A foetalis izmok kontrakciós sebessége lassú, a rostok még lassú és gyors myosint egyaránt tartalmaznak. Az 1 postnatalis héten a myosin isoenzimok kezdenek segregálódni, és a 21. napon már alig van olyan rost, amiben csak lassú myosin van. Ekkor a rostokat már egyetlen axon innerválja. Az újszülött tehát postnatalisan elveszti a polyneuronális innervációt, és ez nagyszámú mellső szarvi sejt veszteséssel jár. A természetes apoptózis folyamatát az újszülött

agyban is leírták. Jó lenne tudni, a gerincvelő mellső szarvban lezajlik-e ez az apoptózis vagy megmaradnak a hypotrophiás motoros sejtek.

Eredményeink alapján a pathogenesisre vonatkozó hypothesisünk a következő:

EM vizsgálattal megfigyeltük, hogy a dongaláb hypotrophiás rostjainak neuromusculáris junctioin több axonvégződés van, tehát feltételezhető, hogy a hypotrophiás rostok beidegzése polyneuronális maradt. A polyneuronális beidegzés nem képesek elegendő, kontrakciót előidéző excitátoros ingerületet átvinni, hogy a a rostokból postnatalisan fiziológiás rosttípus determinálódjon. Feltételezhető, hogy a hypotrophiás izmokban a myosin isoenzimiek postnatális segregatioja sem következik be, és metabolikusan is rosszul differenciált lassú rostok maradnak. (Az ép izomban az ATP-vel I.típusú rostok a lassú rostok).

Mindezekből arra következtettünk, hogy az alsó végtag distális részének komplett kóros fejlődésébe (csontok, ízületek, ízületi tokok, vérerek) a hypotrophiás izomrostok specifikus növekedészavara is beletartozik. AZ EM kép tanúsága szerint a fejlődésben megrekedés akkor következett be, amikor a myogenesisben a neurális input már kialakult.

Egyes szerzők szerint a dongaláb izomtömegének csökkenését a II. rost deficit okozza²². A gyermekek II. deficittel születnek, és ez konstans marad a fejlődés folyamán.

Elméletünk szerint másról van szó. Megfigyeltük, hogy a dongalábas izmokban – legalábbis csecsemőkorban – hypertrophiás I. típusú rostnak nyoma sincs, ellenben a hypertrophiás II. rostok között feltűnően sok precursor II.C rost látható. Feltételeztük, hogy a csecsemőizom különleges képességeibe a funkció helyreállításának sajátos módja is beletartozik: már van „felnőtt” és még van „foetalis” típusú reparációs képessége. Felnőtt neurogén laesióhoz hasonlóan a spinális izomatrophiás csecsemők izmában „óriás” I. típusu rostok jelennek meg, mivel a még egészséges motoros egységekben a reinnerváció képessége működik. A dongaláb izmaiban (más congenitális rosttípus aránytalanságokhoz hasonlóan), ahol nincs denervatio, csak hypotrophia, a foetalis reparáció lép életbe. A hypotrophiás rostok funkcióját a II. rostok működése pótolja, ami II. típusú hypertrophiában és a II.C típusú rostok I. típusú alakulásában nyilvánul meg. Feltehető, hogy emiatt a mechanizmus miatt csökkennek a II.típusú rostok, amit dongalábakban az életkor haladásával már sokan leírtak.

A dongalábasok nervus suralisának felében talált denzitás csökkenést egyelőre nem tudjuk értelmezni. Lényegében megfelelne annak a klinikai képnek, hogy az egész lábszár hypotrophiás, de szem előtt kell tartanunk, hogy a fejlődés normális variációi szélesek. Az ép surálisok számát az életkori tartományokban mindenképpen növelni kell, hogy a fiziológiás szórást megbecsülhessük.

A klinikai és morfológiai összehasonlító vizsgálatok során nem találtunk signifikáns összefüggést a láb funkciója és az egy vagy több lábizomban észlelt patológiai elváltozás súlyossága között. Ez azzal magyarázható, hogy a láb egy complex musculoskeletalis struktúra, és a sokféle struktúra kollektív szimultán mozgása engedi meg a láb mozgását. A dongalábas izmok partiális gyengesége neurológiai

alap abnormitás, amit a normális fejlődés korrigálna, ha a mozgás egy vagy több ízületben nem szűkülne be, sok más ízület mozgása nem korlátozódna, egyes izmok nem nyúlnának túl, és mások nem gyengülnek el. Fontos, hogy a láb struktúráját 5.-8. hónap között korrigáljuk, hogy az izom és ideg struktúrákban az első életévben zajló sajátos fejlődést ki tudjuk használni. A folyamatos kontraktilis aktiváció a fejlődés alatt az izomrostok érésének egy fontos faktora.

Mivel mindkét betegcsoportban találtunk egy-két "oda nem illő" esetet (hypomyelinisáló neuropathia, korai axonális axonális öröklődő sensomotoros neuropathia gyanúja, foetalis izomdystrophiák), fontosnak tartjuk a műtét előtti EMG/ENG vizsgálatot²³, mert általa a neurogén részvétel, a felső és alsóvégtag érintettsége, az axonális és demyelinisációs neuropathia könnyen differenciálható. A n.suralis vizsgálata sem maradhat el a korai öröklődő sensomotoros neuropathiák kiszűrése céljából. A korai idegbiopszia ma, a molekuláris érében csak nagyon ritkán indokolt fejlődéskésésben lévő kisdnednél. A n. suralis morfológiai vizsgálatait felváltják a molekuláris genetikai vizsgálatok. Demyelinisációs típusú neuropathiában az esetek igen nagy százalékában a PMP22 (peripheriás myelin protein) gén duplikációja áll, a második leggyakoribb eltérés a connexin 32 gén rendellenessége, majd jelenlegi ismereteink szerint a myelin protein zero (MPZ) és „early growth response 2” (EGR2) következik a gyakorisági listán. A roma populációban a Lom mutáció a leggyakoribb.

A CAMoN módszerrel végzett vizsgálatok leírása talán aránytalanul sok helyet foglal el a dongalábban elért szerény eredményekhez képest. A CAMoN (computer asszisztált ideg morfometria) bevezetése Magyarországra azonban nagyon fontos volt, mert a surális minta hiteles kiértékelése fontos része a neurológiai betegségek diagnosztikájának. Legnagyobb előnye a pontossága, a gyorsasága és az olcsósága. Densimetriás programja segítségével számszerűen elemezhető a vizsgált fasciculáris area, a velőrost sűrűség, külön elemezhető a vastag és vékony velőrostok sűrűsége (number/mm²). A gauging programmal mérhető a relatív axonális, myelin és endoneuriális felszín, az átlagos g-ratio (axonátmérő/rostátmérő). Gyermekes esetében csak patológiás idegmintákkal foglalkozó kvantitatív elemzéseket találtunk, mindössze egy szerző közölt semikvantitatív módszerrel kapott számításokat 0-77 éves kor közötti 27 egyén korai hullai, paraffinba ágyazott, ép surálisából²⁴. 5 hónapos és 1 éves életkor között 2 minta elemzése szerepel. Mivel a csecsemőidegek fiziológias morfometriai értékeivel kapcsolatos információk hiányoznak az irodalomból, létrehoztunk egy 0-16 hó korig terjedő csecsemő ideg referencia-csoportot, amely ha még finomodik, bővül, alkalmas lesz a csecsemő surálisok pontos vizsgálatára, a korai, az enyhébb neuropathiák elkülönítésére.

Az izomminták számítógépes kvantitatív morfometriai analízise nélkül nem tudjuk eredményeinket hazai és nemzetközi folyóiratokban publikálni.

Irodalomjegyzék

1. Keret D, Ezra E, Lokiec F et al: Efficacy of prenatal ultrasonography in confirmed club foot. J Bone Joint Surg 2002, 84:1015-1019.
2. Bellyei Á, Czeizel A: A higher incidence of congenital structural talipes equinovarus in Gypsies. Hum. Hered. 1983,33:58-59.

3. Czeizel E, Bellyei Á, Kráncz J, Mocsai L: A veleszületett strukturális dongaláb polygén öröklődése Orv Hetilap 1977,24:1395-1398.
4. Heck AL, Bray MS, Scott A, Blanton SH, Hecht JT: Variation in CASP10 gene is associated with idiopathic talipes equinovarus. J Pediatr Orthop 25:598-602,2005.
5. Dimeglio A, Bensahel H et al: Classification of club foot. J Pediatr Orthop 4 B, 1995, 4:129-136.
6. Mulken MJ, Bulstra SK, Hoefnagels NHM: Evaluation of the treatment of clubfeet with the Dimeglio score. J Pediatr Orthop 21:642-647,2001.
7. Herczegfalvi Á: A spinális izomatrophia komplex klinikai, elektrofiziológiai és genetikai vizsgálatának új perspektívái. Kandidatura, 2000.
8. Brucher JM et al: Morphometry and electronic data processing. Clin. Neuropathol. 1986, 5:122-123.
9. Bigner DR, Rijhsinghani A, Yankowitz J: Congenital fiber-type disproportion presenting antenatally with clubfoot and hydramnios. Gynec Obstet Invest 49:275-276,2000.
10. Kullmann L, Szijj É: Elektromyographische und histologische Veränderungen bei Arthrogryposis. Arch Orthop Unfall-Chir 76:235-241,1973.
11. Gray DH, Katz JM: A histochemical study of muscle in clubfoot. J Bone Joint Surg (Br) 1981, 63B:417-423.
12. Isaacs H, Handelsman JE et al: The muscles in clubfoot: a histological, histochemical and electronmicroscopic study. J Bone Joint Surg (Br) 1977, 59-B: 465-72.
13. Loren GJ, Karpinski NC, Mubarak SJ: Clinical implications of club foot histopathology. J Pediatr Orthop 1998,18:765-769.
14. Kráncz J, Trombitás K, Szepesi J: Dongalábas betegek izmain végzett ultrastrukturális vizsgálatok. Magy Traumat 23:89-97,1980.
15. Handelsman JE, Badalamente MA: Club foot: a neuromuscular disease. Dev Med Child Neurol 1982,14:3-12.
16. Zeldbrin Z, Gilai AN et al: Muscle imbalance in the aetiology of idiopathic clubfoot. J Bone Joint Surg (Br) 1995,77-B: 596-601.
17. Sher MA, Handelsman JE et al: The effects on muscle of immobilization under tension and relaxation. J Bone Joint Surg (Br) 1977, 59:257.
18. Kawashima T, Uhthoff HK: Development of the foot in prenatal life in relation to idiopathic clubfoot. J Pediatr Orthop 10:232-237,1990.
19. Fukuhara K, Schollmeier G, Uhthoff HK: The pathogenesis of clubfoot: a histomorphometric and immunohistochemical study of fetuses. J Bone Joint Surg (Br) 1994,76:450-7.
20. Farkas-Bargeton E, Dibler MF et al: Etude de la maturation histochimique, quantitative et ultrastructurale du muscle foetal humain. J of Neurol Sci. 1977,31:245-258.
21. Dubowitz V: Enzyme histochemistry of skeletal muscle. Part II. Developing human muscle. J of Neurol, Neurosurg, Psych. 1965b,28, 519-524.
22. Gosztanyi G, Dorfmueller-Kuechlin S et al: Morphometric study of muscle in congenital idiopathic clubfoot. Path Res Pract 1989, 185:790-794.
23. Tonnies D: Elektromyographische und histologische Untersuchungen zur Frage der Entstehung des angeborenen Klumpfußes. T Orthop Ihre Grenzgeb 1969,105:595-615.

24. Jacobs JM, Love S: Qualitative and quantitative morphology of human sural nerve at different ages. Brain, 1985, 108: 897-924.
25. Kráncz J, Barta O, Bellyei Á: Korai lágyrészműtétek a világra hozott dongaláb kezelésében. Magy Traumat 20:143-151,1977.
26. Kráncz J, Barta O, Bellyei Á: Módszer a veleszületett strukturális dongaláb kezelési eredményeinek megítéléséhez. Magy Traumat 20:287-293,1977.
27. Kráncz J, Barta O, Bellyei Á: A lágyrészműtétek hatása dongalábas betegek lábtőcsontjának fejlődésére. Magy Traumat 23:14-21,1980.
28. Kráncz J, Barta O, Bellyei Á: Lágyrészműtétek eredményei a veleszületett dongaláb kezelésében. Magy Traumat 23:191-200,1980.

Congenitalis cataracta facialis dysmorphismus neuropathia syndroma (CCFDN)**Első magyarországi közlés****Congenital cataracts facial dysmorphism neuropathy syndrome (CCFDN)
First Hungarian case report**

Siska Éva¹, Neuwirth Magdolna², Rebecca Gooding³, Molnár Mária Judit¹

¹ Országos Pszichiátriai és Neurológiai Intézet, Budapest

² Magyarországi Református Egyház Bethesda Gyermekkórház

³ Edith Cowan University, Perth, Australia

Rövidített cím: CCFDN szindróma

CCFDN syndrome

Kulcsszavak: CCFDN, congenitális cataracta, neuropathia, CTDP1 gén

Key words: CCFDN, congenital cataracts, neuropathy, CTDP1 gene

Levelező szerző: Siska Éva MD, PhD

Országos Pszichiátriai és Neurológiai Intézet

Molekuláris Neurológiai Osztály

1021 Budapest, Hűvösvölgyi út 116.

Tel/fax: +36 13915300

Fax: +36 13915405

e-mail: evasiska@opni.hu

Abstract

A congenitális cataracta facialis dysmorphismus neuropathia (CCFDN) syndroma (OMIM 604168) egy nemrég leírt autoszómális recesszív öröklődésű betegség előfordulása - más privát roma betegségektől eltérően - csaknem kizárólag az európai oláh cigányok egy endogám közösségére, a Rudari csoportra korlátozódik. A CCFDN komplex, több szervrendszert érintő kórkép, melyet dysmorph facies, congenitális cataracta, microcornea, korai somatomotoros és intellektuális fejlődéskésés, hypogonadotrop hypogonadizmus, a perifériás idegrendszer hypomyelinisatiója, és gyakran súlyos anaesthesiás komplikációk jellemeznek. A betegséget a 18q23 régióban elhelyezkedő CTDP1 gén homozygota mutációja okozza. A szerzők egy nagy roma nagycsalád genetikailag igazolt CCFDN-es esetét mutatják be, igazolva, hogy a magyarországi cigány népességben is jelen van a CCFDN mutáció. Közleményük arra hívja a figyelmet fel, hogy a molekuláris genetikai diagnosztika az invazív módszerek mellőzését teszi lehetővé és a tünetmentes heterozygóták azonosítására nyújt lehetőséget a roma családokban. A genetikai szűrés bevezetése megteremtheti a genetikai tanácsadás, a prevenció lehetőségét a veszélyeztetett populációban.

Abstract

The congenital cataracts facial dysmorphism neuropathy (CCFDN) syndrome (OMIM 604168) is a recently described autosomal recessive developmental disorder. It is almost completely restricted to an endogamous group of the European Vlach Roma population, called the Rudari. The CCFDN syndrome is a complex phenotype involving multiple systems, characterized by facial dysmorphism, congenital cataracts, microcorneae, delayed early motor and intellectual development, hypogonadotrop hypogonadism, hypomyelination of the peripheral nervous system,

and serious complications related to general anaesthesia. This disorder is caused by a homozygous mutation of the CTFD1 gene, localized to the 18q23 region. Authors present one genetically identified case in a large Roma family. The case documents that the CCFDN mutation is present also in the Hungarian Roma population. The paper calls attention to the fact that molecular genetic diagnostics can replace invasive methods and makes possible the identification of heterozygotes without clinical symptoms in the Roma families. The introduction of the genetic screening enables us to perform genetic counselling and prevention in this high-risk population.

Bevezetés

Európa roma populációja kb. 8-10 millió. A cigányság ázsiai (indiai) eredetű népcsoport, mely földrajzilag szétszórta, genetikailag izoláltan, endogám kolóniákban él egész Európa területén. A romák a 14. századtól több hullámban vándoroltak a Balkánról Magyarországra: a középkorban a romungrók (magyar anyanyelvűvé vált muzsikás cigányok), a 15. századtól a romok (archaikus román beszélő oláh vagy vlax) cigányok, akik főleg a 18. század második felében és a 19. század első felében települtek be Erdélybe), végül a 19. század második felétől a volt román fejedelemségekből a beások (román anyanyelvű román cigányok). 1893-ban 280.000 cigányt élt a királyi Magyarországon, ebből becslések szerint 65.000 az ország mai területén belül lakott. A legfrissebb népszámlálás szerint Magyarországon a romák lélekszáma kb. ötszázezerre tehető.¹

A romák népességtörténetét genetikailag alapító (ún. founder) mutációk jelenléte illetve a „genetikai üvegnyak” effektus jellemzi. Bizonyítást nyert, hogy az endogám házassági hagyományaik következtében kialakuló korlátozott genetikai diverzitás miatt számos olyan polygén és monogén genetikai betegség iránt veszélyeztetettek, melyek a többi európai népcsoportban nem vagy ritkán fordulnak elő. Becslés szerint minden tizedik európai roma hordoz valamilyen autoszómális recesszív öröklődő neuromusculáris betegséget.² Ez az adat jelzi, hogy a neuromuscularis betegségek fontos népegészségügyi kérdést jelentenek a roma etnikai csoportban. A romák körében eddig három hereditár perifériás neuropathia formát fedeztek fel: a hereditár motoros és sensoros neuropathia Russe² és Lom³ formáját illetve a congenitális cataracta faciális dysmorphia neuropathia (CCFDN) szindrómát⁴. A két utóbbi betegséget egyedi roma alapító mutáció okozza, a Russe típusú hereditár sensomotoros neuropathiának még nincs teljesen feltárva a molekuláris alapja⁵. A mutációk gyakoriságában jelentős különbséget találtak bizonyos roma csoportoknál, ami jelzi a genetikai divergenciát. Bulgáriát kivéve Európában eddig nem történtek a roma neuromusculáris betegségekre vonatkozó átfogó epidemiológiai vizsgálatok. A CCFDN szindróma előfordulása a magyarországi romákban valószínűleg nem újkeletű, már a 18. századi antropomorfológiai leírásokban említést tesznek „hályogos szemű” és „gacsos lábú” oláh cigányokról¹.

Jelen közleményünkben a CCFDN klinikai és molekuláris genetikai jellemzőit mutatjuk be saját esetünk kapcsán. A szindrómát eredetileg 1999-ben Bulgáriában Rudari cigányokon írták le, génjét 2003-ban mint privát alapító mutációt azonosították⁶. Azóta Európa más országaiban élő roma közösségekben is felismerték, de nem romákban eddig még nem írták le ezt a mutációt.

Esetismertetés

A roma nagy családban apai ágon egy dongalábbal született betegről illetve két szembetegről tudnak (1. ábra.). A család romungró, kivéve az apai dédanyát, aki oláh cigány volt. A probanda III/II terhességből, terminuson túl, congenitális cataractával,

microcorneával, bal oldali divergens strabismussal született leány. Kisded korában mindkét szemébe lencsét ültettek be. Mozgásfejlődése lassú volt, 2 éves korában észlelték először hypotoniáját. Hat éves korától a Vakok Intézetében speciális gyógytornában részesült, ekkor észlelik először kezeiben a choreiform mozgászavart. 8 éves korában kezdett segítséggel járni. A distális izomok fokozatos sorvadása, gyengülése, lábdeformitás kialakulása ellenére 14 éves korára önállóan megtanult járni. Apja elmondása szerint soha nem volt adaequat hő- és fájdalomérzése. 12 éves korában Steindler féle korrekciós műtét, 16 éves korában Achillotomia, 19 éves korában kétoldali musculus tibialis posterior és musculus extensor hallucis longus átültetés, I. interphalangeális ízületi dézis történt, mert sarkai 20 fokos varus, nyújtott térd mellett 5 fokos equines állásban voltak. Hajlított térd mellett mindkét sarka 20 fokig volt extendálható. 22 é. korában bal csípőízületi arthrosis lett. Menstruációs ciklusa rendszertelen, de a másodlagos nemi jelleg normálisan kifejlődött. Jelenleg 28 éves, termete alacsony (145 cm). Neurológiai statusából kiemelendő: microcephalia, facialis dysmorphia (a hajas fejbőr mélyen a homlokban, prominens arcközép, nagy orr, előre álló felső fogak, hypognathia), cataracta műtét utáni állapot, mindkét oldalon heves horizontalis I. fokú nystagmus, microcornea, súlyos jobbra convex thoracalis scoliosis, hypotrophiás kéz és láb. A csukló flexióban és ulnár deviációban, a kezujjak flektált helyzetben. A lábfejek rövidek, szélesek, mindkét öregujj kalapácsujj (1.ábra).



A talp külső szélét és a metatarsus fejeket terhelve jár, ujjai a levegőben (korrigált pes equinovarus). A felső végtag proximális izomcsoportjainak ereje megtartott, az alsó végtag proximalis izmainak ereje bal túlsúllyal közepes fokban csökkent. A felső és alsó végtag distális izomcsoportjaiban közepesen súlyos paresis. Testszerte hiányzó mélyreflexek. Érzészavart nem jelez. A vállakban és a felső végtag distális részén choreiform mozgások. Enyhe törzsataxia. Vakjárása balra tart. Intellektusa megtartott, jól kooperál. A rutin laboratóriumi eredmények a szérum kreatinkináz (CK) szintet normálisak voltak. A serum CK:300 U/l (normál tartomány: <100 U/l) volt.

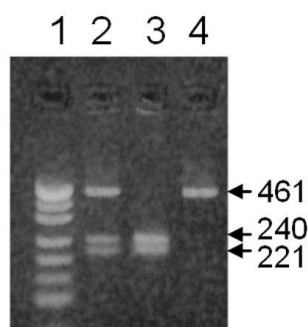
Elektrofiziológiai vizsgálatok: az EEG, a vizuális kiváltott válasz (VEP) és az agytörzsi akusztikus kiváltott válasz (BAEP) nem mutatott rendellenességet. A somatosensoros kiváltott válasz (SSEP) a perifériás neuropathia által okozott eltéréseken kívül egyéb kórosat nem talált.

Az EMG neurogén izomatrophia jelei találta, az ENG pedig demyelinisatiós túlsúlyú kevert típusú sensomotoros peripheriás neuropathiát igazolt.

Morphologiai vizsgálatok: Két alkalommal történt izom és idegbiopsia (12 és 22 éves korban). A musculus gastrocnemiusból vett fagyasztott izombiopsiát a standard rutin hisztokémiai módszerekkel dolgoztuk fel, illetve a n. suralis műgyantába ágyazott félvékony és ultravékony metszeteit is értékeltük. Az izombiopszia neurogén izomatrophia jellegzetes anguláris atrophias rostokat talált diffusan elszórtan illetve kiscsoportos elrendeződésben. Az ATPase festésekkel 1 típusú rosttúlsúly (>80%) mutatkozott. A nervus suralis félvékony metszetein a vastag velőhüvelyes rostok densitása kb. 50%-kal csökkent, több axon myelinhüvelye az axonátmérőkhöz képest aránytalanul vékony volt. Regenerációt jelző kis axoncsoportokat, hagymalevélrajzolatot nem detektáltunk. Az ideg elektronmikroszkópos vizsgálata hypomyelinisatiót és kisméretű axonelfajulást talált. A velőtlen rostok száma normális volt. Kisméretű aktív myelin szétesést csak a 22 éves korban vett második idegbiopsiás mintában találtunk. A n. suralis számítógépes morfometriai vizsgálata (CAMoN Softver) során a referencia értékekhez képest ($11-15000/\text{mm}^2$) a velőrostok densitása a normálisnak csaknem a felére csökkent ($5354/\text{mm}^2$). Különösen erősen érintettek a vastag velőhüvelyes rostok (LMF) (43%), ennek megfelelően a myelin (36%) és MF area (35%) is erősen csökkentek. A hypomyelinisatio csak minimális (g-ratio=axonátmérő/rostátmérő) (108%).

Képzalkotó eljárások: Koponya MRI: A bal oldali hátsó occipito-laterális régióban a gyrus rajzolat elsimult, a cortex kissé vaskosabb (polymicrogyria). A sella MRI-n a hypophysis jobb lebenyében microadenoma ábrázolódott.

Molekuláris genetikai vizsgálat: A CTRP1 gén vizsgálata PCR-t követően NlaIII enzimmal való restrikciós enzimhasítással történt⁶. A restrikciós fragmentek analízise igazolta a CTRP1 gén homozigóta mutációját a probandban (2. ábra). A családtagok közül egy apai másodunokatestvérben is igazolódott ez a mutáció. A molekuláris genetikai vizsgálat a beteg előzetes beleegyezését követően Perthben, az Edith Cowan Egyetemen, Ausztráliában történt.



2. kép. A mutáció azonosítása PCR alapú restrikciós enzimhasítással. A mutáció megszünteti a NlaIII enzim restrikciós helyét. A 461-bp PCR termék NlaIII enzim általi restrikciós emésztése igazolja C > T mutációt. A 240 és 221 bp fragmentek a vad típusú sequenciában észlelhetők. Az 1.oszlop molekula súly marker, a 2.oszlop C/T heterozygota, a 3.oszlop vad típusú C/C homozygota, a 4.oszlop mutáns T/T homozygota beteg mintája.

Megbeszélés

A CCFDN komplex multisystemás betegség. Tünetei minden esetben több szervrendszert, a látórendszert, a csontrendszert, a központi és perifériás idegrendszert érintik. Esetünkben is az irodalmi adatoknak megfelelően valamennyi

fenti szervrendszer érintettsége igazolódott. A szemtünetek congenitális cataracta és microcornea képében jelentkeznek. A CCFDN syndroma diagnosztikus kritériuma a microcornea társulása, míg a congenitális cataracta microcornea nélkül más, CCFDN-t átfedő phenotypusokban is rendszerint jelen van¹³. A csontrendszer részvételét az alacsony termet, faciális dysmorphia, kyphoscoliosis, végtagdeformitások igazolják. A dysmorphia már gyermekkorban jól felismerhető: az arc koponya kicsi, az arcközép előreugrik, az orr nagy, a felső fogak előre állnak, az áll fejletlen. A kyphoscoliosis és a végtagdeformitások, melyek csaknem mindig társuló korai tünetek, már nemcsak a csontrendszer károsodásával, hanem a súlyos neuropathia következtében kialakuló izomatropfiával is magyarázhatók. A lábdeformitás mértéke összhangban volt a velősrósthány és a hypomyelinisatio súlyosságával. A központi idegrendszer érintettsége minden esetben legalább egy, de inkább több éves mentális és motoros fejlődéskésésben, enyhe mentális retardációban, a betegek 1/3-ánál enyhe ataxiában és/vagy choreoathetosisban nyilvánul meg. Betegünk psychomotoros fejlődése is lassú volt, korán kialakult a choreoathetosis, és a koponya MRI cerebralis fejlődési rendellenességet talált. A károsodott agy fejlődési készségének jelentős szerepe volt abban, hogy betegünk hosszú gyakorlással a járást megtanulta, a vizuális, a perceptuális és kognitív területen számos új készségre tett szert. A CCFDN syndromában előforduló choreiform mozgásokat Tournay² szerint a proprioceptív ingerek agyi organizációjának fejlődési rendellenessége idézi elő. Sok minden múlik azon, hogy a proprioceptív ingereknek milyen az agykérgi, törzsadúci reprezentációja. Bár más leírásokban nem szerepel a kórkép részeként a hypophysis microadenoma, mi úgy véljük a gonadotrop hormonok hiányos szabályozását ez is magyarázhatja. A perifériás neuropathiára a súlyos, korán kialakuló distális túlsúlyú symmetriás paresis hívta fel a figyelmet. A demyelinisations és axonalis típusú neuropathia ENG-vel könnyen differenciálható. Az irodalom szerint a legfiatalabb beteg, akinél electrophysiológiailag igazolták a betegséget 8 hónapos volt. A patológia segíthet a de- és hypomyelinisatio elkülönítésében. A fénymikroszkópos vizsgálattal becsült hypomyelinisatio számítógéppel vezérelt morfometriai elemzéssel pontosítható (>0,5 g-ratio). A vastag és vékony velősróstsok sűrűsége a 2. évtizedben, a kór előrehaladtával csökken, és másodlagosan demyelinisatio is megjelenik. Mindezek ellenére a korai idegbiopszia ma, a molekuláris erában csak nagyon ritkán indokolt fejlődéskésésben lévő kisdiednél. A n. suralis morfológiai vizsgálatait felváltják a molekuláris genetikai vizsgálatok. Demyelinisations típusú neuropathiában az esetek igen nagy százalékában a PMP22 (perifériás myelin protein) gén duplikációja áll, a második leggyakoribb eltérés a connexin 32 gén rendellenessége, majd jelenlegi ismereteink szerint a myelin protein zero (MPZ) és „early growth response 2” (EGR2) következik a gyakorisági listán. A roma populációban a Lom mutáció a leggyakoribb.

Összehasonlító klinikai vizsgálatok azt mutatták, hogy a CCFDN génmutáció fenotípusos megjelenése változó lehet. Jelen esetünkben a differenciáldiagnosztikát a beteg etnikai hovatartozása a következő néhány syndromára szűkítette be a CCFDN mellett: Marinesco-Sjögren-szerű syndroma (OMIM 248810), polyneuropathia-cataracta-süketség-retardatio syndroma (OMIM 212710). Amíg a congenitális cataracta, perifériás idegbántalom somatomentális retardatio, ataxia, csontdeformitás, hypogonadismus ezekben a kórképekben egyaránt jelen lehet, addig a faciális dysmorphia és a microcornea fenti tünetekkel együttes jelenléte csak a CCFDN syndromára jellegzetes.

A CCFDN syndroma klinikai gyanúját betegünknel a CTDP1 gén (carboxy-terminális domain, RNA polymerase II, polypeptid A phosphatase, 1 alegység) homozygota mutációja erősítette meg (4. ábra). A gén egy proteinfoszfátáz kódol (FCP1), amely egy transzkripciót indító carboxy terminális faktorról (TFIIH) van interakcióban. A mutáció eredményeként létrejött C-T transitio olyan splicing hibát hoz létre, amely során 95 nucleotid insertálódik a CTDP1 mRNS-be. Ennek következtében a 6. exon korábban terminálódik és aberráns fehérje keletkezik. A fehérje fejlődésszabályozásban játszott szerepét még nem ismerjük.

Haplotípus genealógia szerint a CCFDN syndroma alapító mutációja a Bulgáriában élő oláh cigányok szűkebb diverzitásán belül, a Rudari populáció kiválása idején keletkezett mintegy 300 éve, 16 nemzedékkel ezelőtt (a roma generációváltás: 16 év). A Rudari cigányokban talált 6,9% prevalencia ennek az endogám csoportnak az egyértelmű predispozíciójára utal (irodalom). Az átlagos hordozósági ráta egyéb romákban 0,6%, a nem roma európaiakban 0%.

Az esetbemutatusunkkal arra kívánjuk felhívni a figyelmet, hogy a hazai roma lakosságban is jelen van a CCFDN syndroma. Bármely roma családban egy CCFDN syndromás beteg felfedezése tünetmentes hordozók és további beteg egyének létezésére hívja fel a figyelmet. Miután Magyarországon a lakosság 5-6 %-át romák alkotják, és relatív arányuk folyamatosan nő, kiemelten fontos, hogy a genetikai betegségek spektrumát, prevalenciáját, mutáció hordozósági frekvenciáját megismerjük és megteremtsük a genetikai tanácsadás és a prevenció lehetőségét.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A tanulmány az OTKA által támogatott T 25935 sz. kutatás segítségével készült. Köszönetünket fejezzük ki Luba Kalaydjieva professzornak, az ausztráliai Edith Cowan Egyetem munkatársának, a molekuláris genetikai vizsgálatok elvégzésében nyújtott segítségével, a betegeknek és családjuknak az együttműködésért.

1. Táblázat: Fejlődés neurológiai és annak alapján kiválasztott vizsgálatok eredményei

	Kor	Terh	Szülés	Idő	Súly	Apg.	Kompl.	perinat	AMC + syndroma	CK U/I	EMG	ENG	MRI	Biops.	Gen.
1	2 nap	I/I.	elhúzódo mec. m.víz	40		5/7	császárm.	gépi lélegeztetés	háti kyphosis for. ovale apert d.Botalli persist. retentio testis areflexia		neurogén				SMN1 neg FKRP neg SMARD folyamatban
2	3 nap	IV/I polyhydr.		34	1600	4/6	császárm.	relaxált rekesz	incomplett syndactylia	900 LDH: 2600					SMN1 neg
3	3 nap	polyhydr.		31		0/8	császárm.	gépi lélegeztetés	halszáj, mellkas hypoplasia facialis diplegia	<100				CMD myoton.	DMPK 1neg SMN1 neg FKRP neg
4	6 nap	polyhydr.	medence végű fekvés		3300	6/8	császárm.	gépi lélegeztetés	dysmorphia micrognatia gégebemenet malformatio	214			kop.UH ép		SMN1 neg
5	13 nap	polyhydr. gyenge i.u. mozgás	medence végű fekvés	38	2600	0/1	császárm.	cardiopulm. resusc.	dysmorphia gótikus szápad dystrophia hypotrophia areflexia		elszórt fibrill.	lassult MCV alacsony pot. tib.felől válasz			SMN1 neg
6	1 hó	gyenge i.u. mozgás							incoord szemmozg. papilla decolor gen. hypotonia renyhe mélyreflexek	40 000	neurogén VEP kóros BAEP kóros	megröv.tart. és ampl.pot	kisagy hypotr. callosum hátsó 1/3 hiányzik	CMD autopsia: ponto- cerebell. hypoplasia	SMN1 neg FKRP neg POMT neg POMTGmT neg
7	4 hó								mandibula hypopl. areflexia		m.tib.ant. norm	j.dist.MCV csökkent			Freeman-Sh syndroma
10	7 hó			37	2600				dyscrania gótikus szápad micrognatia hypotonia retentio testis		myopathia	lassult MCV alacsony pot.		ax. deg.	HMSN?
11	7 hó	i.u. vírus fert.		38	2800			incont.urinae et ani	dysmorphia cataracta strabismus fogfejl.zavar psychomot.retard		m.tib.ant norm	b.MCV nem mérhető pot.alacsony	spina bifida occulta		Goeltz sy
12	8 hó	IV/III gyenge i.u. mozgás		40	3450	10/10	nehéz szülés	zavart sens. cyanosis	hypotonia areflexia		myopathia		vermis hypopl. CV-VI-ig gv ép	CMD	SMN1 neg FKRP neg
14	10 hó	I/I oligohydr. gyenge i.u. mozgás		34	1690	6/4	i.u. infectio	gépi lélegeztetés	ferde hasizom hiány, atrophas küllem		neurogén	per.MCV nem mérhető tib.felől válasz			

2. Táblázat: Elektrofiziológiai vizsgálat eredménye

Műtött,morfol. Vizsgált dongák

Motoros Beteg / életkor	Jobb n. peroneus		Bal n. peroneus		jo n. medianus		Jo n.tibial.		Bo n.tibial.		Jobb n. suralis	EMG
	CV (m/s)	Ampl (mV)	CV (m/s)	Ampl (mV)	CV (m/s)	Ampl (mV)	CV(m/s)	Ampl (mV)	Ampl (mV)		CV (m/s)	
	Norm ≥ 40	Norm ≥ 5	Norm ≥ 40	Norm ≥ 5	Norm ≥ 40	Norm ≥ 5		Norm ≥ 5	Norm ≥ 5			
K.B.8h	38.31	3.2	42.27	5.8								norm
M.Zs6,5é	55.3	1.9					50.011					
N.A7,5h	51.04	3.1	48.43	3.4								norm
K.C.5h	20.45	1.1										norm
S.Á.8h	47.36	1.9	33.2	0.8								norm
N.G.10h	48.97	3.3	46.19	1.9								norm
F.M.9h	40.32	2.01	35	0.8								norm
Sz.F.5h	27.77	0.1	23.8	0.4								norm
H.A.2é9h	53.2	1.5	46.2	4.6								neurogen

Nem műtött,de vizsgálatba bevont dongák

F.M:1h	29.58	2.1	29.76	4.1								norm
MG-3h	33.92	549,0uV	33.73	2.3								norm
N.R.6h	25.24	0.9	59.75	2.01			19.19	0.6				norm
K.E.5h	45.83	2.8	41.81	1.7			30.3	2.01	31.3	1.8		norm
H.G.1h	5.6	166,6uV	17.65	170,4uV	37.5	411,7uV						neurogen
G.D.16h	51.17	0.4	54.62	0.8								
Cs.K.2h	38.01	2.47			39.8	6.9	37.5	13.7				
K.D.2é9h	28.75	1.2	43.83	5.01		medsens	32.81	2.2	33.43	3.01		neurogen

Kontroll arthrogryposis

bo.med

K.G.2h	nem mérh.				13.8	1.4						neurogen
F.A.8h	26.1	0.1					jo.tibial					neurogen
Sz.E.5h	nem mérh.						nem mérh					neurogen
K.G.6h	30.97	568,6uV	27.3	101,9uV								norm
R.N.2h	nem mérh.				nem mérh		nem mérh					redukált?
B.S.4h	nem mérh.				nem mérh		nem mérh					neurogen

3. Táblázat: Dongalábbal műtöttek izombiopsziás eredményei

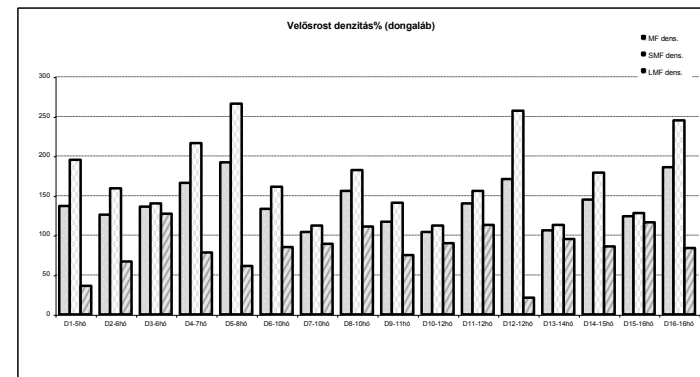
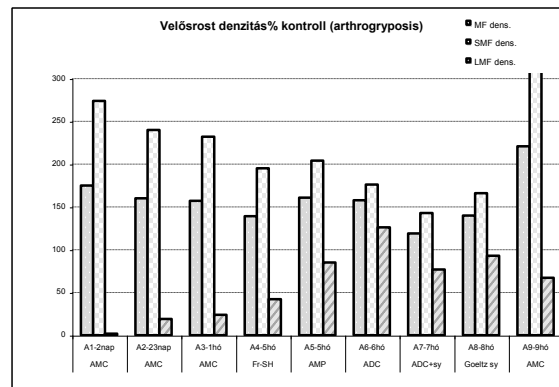
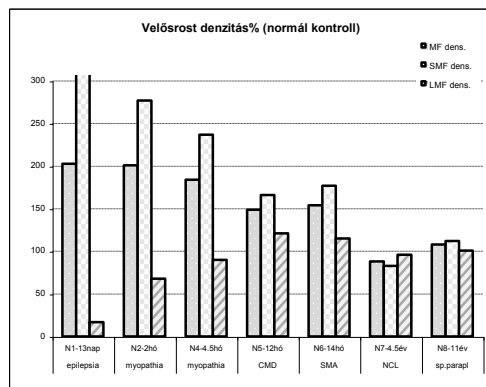
sor	eset	életkor	m.gastr.	m.tib.p.	m.peron	m.fl.h.l.
szám	szám		I-II.=(45-55):(45-55)%		I-II.=(53-73):(27-47)%	
1	65.71	5 hó			54:46, 60% I.atr	72:24, 100% I.atr, II. hypertr
2	65.10	5 hó			36:64!, I. 10um, II. 14um	30:70, I. 5-8um, II. 14um
3	66.39	6 hó			60:40, I. 100% 8-11um, II.18um	53:47, I. 15um, II. 16-22um
4	67.98	6 hó	75:25, 67% I.atr	Zsíros, atr norm	norm hyper	
5	67.59	6 hó	76:24, I-II. atr (13-20um)		31:69!, I-II.11um, II. 24um	50:50, I. 6-14um, II. 20um
6	66.46	6 hó			47:53!, I. 100% atr, II. norm, II.C alig	52:48, I.100% atr, II.C hypertr
7	65.20	6,5 hó			40:60, I. 100% atrophía	61:49, 50% I-II. atr
8	67.97	7 hó	80:20, 34% I-II. 11-21um	60:40, I. 100% atr, II. norm	50:50, atr.norm.hyper	56:44, I. 100% 12um, II. 30-70um
9	67.92	8 hó	80:20, I. 90% 11um		51:49, I. 80% atr	
10	69.60	8 hó	norm		sok zsír, ktsz, kicsi, hypetr	kicsi norm, hypertr
11	69.03	8 hó	75:25, 50% I. atr, 50% II. atr	57:43, 100% I. atr, II. norm	40:60! sok zsír, ktsz, 60% I. atr	32:64, I. atr, II. hypertr
12	67.44	8 hó			80:14, I.50% atr, II. norm	I. 50% atr, II. hypertr
13	67.55	10 hó	79:21, 100% I-II. atr(10-12um)	66:34, I. 80% 11um, II. 20um	44:56!, I. 80% 10um, II. norm	
14	67.77	10 hó	64:36, 50%I. atr	69:31, 80% I. atr	33:67!, 77% I.atr	67:33, 45% I.atr
15	67.63	10 hó	64:36, 60% I.atr, 40% II. atr		76:24, 40% I.atr, 20% II. atr	30:60, I-II. egyf
16	67.36	10 hó			60:40, I. norm, II. hypertr	36:64, 100% I. atr, hypertr II.C
17	67.71	11 hó	69:31, 40% I. atr		57:43, norm	38% I. Atr, 82% II. hypertr
18	65.28	12 hó			50:50, I. 12-15um, II. 20um	50:50, I-II. norm
19	68.15	12 hó	83:17, I.30% atr, II. hypertr		76:24, I. 30% atr, II. hypertr	68:32, I. 30% atr, II. hypertr
20	64.73	12 hó			55:45, 80% I. atr. 20% II. atr	43:57, 60% I. atr, II. hypertr
21	68.72	14 hó	100:0, ktsz, fasc.atr és I. hypertr!	43:57, II. hypertr	50:50, 100% I. atr.	58:42, I. norm, II. hypertr
22	68.10	13 hó			59:41, 50% I. atr	m. ext.h.l.13:87, 88% I. atr, 80% II. atr
23	69.18	16 hó	80:20, norm	50:50, 100% I. atr	47:53, 100% I. atr, II. hypertr	100% I. atr, nagy hypertr
24	67.64	16 hó	73:27, 5% I. atr, 23% II.hyper		39:61!, 31% I. atr	52:48, 10% I. atr
25	67.49	2.5 év	78:22, I-II. norm		63:37, 20% I. atr, II. hypetr	73:27, 60% I. atr, II. hypertr
26	69.73	4 év	77:23, 50% I. atr	39:61 norm	55:45, mérs II. hypertr	24:76, 90% I. atr
27	66.20	5 év			55:45, I-II. atr, sok II.C	70:30, I. 6um, II. 22-36um II.C
28	68.16	9 év	75:25, ktsf I. atr			50:50, I. norm, II. hypertr
29	63.51	13 év	53:47, 80% I. atr, II. 40um		90:10, I. dominancia 50um	

5: Táblázat: Klinikai és morfológiai eredmények összehasonlítása

szöv.	élet	Donga	Equinus	Varus	Adductus	Supinatus	Plantiflexus	Post. Med. Grade	Pont	m.gastr.	m.tib.p.	m.peron	m.fl.h.l.
esetsz.	kor	láb	fok	fok	fok	fok	fok	redo redo		1:2=(45-55):(45-55)%		1:2=(53-73):(27-47)%	
67.92	8 hó	jobb bal							3	80:20 I. 90% atr		51:49 I. 80% atr	
67.71 D9	11 hó	bal	50	30	40	30	20	1 0	2	69:31 40% I. atr	57:43 norm	38%I. atr 82% II. hypertr	

63.51	13 év	jobb bal											53:47 80% I. atr, II. 40um			90:10 I. dominancia, 50um			
67.64	D16	16 hó	jobb bal	45	30	50	15	15	1	1	2	11	73:27			39:61!	52:48		
				45	40	60	20	20	1	1	2	12	5% I. atr, 23% II.hyper			31% I. atr	10% I. atr		
64.73	D12	12 hó	jobb bal	30	0	15	0	0	0	0	3	7			55:45 80% I. atr, 20% II. atr	43:57 60% I. atr, II. hypertr			
67.49	2,5 év	jobb	10	5								2	78:22, I. , II. norm	63:37, 20% I. atr, II. hypertr		73:27, 60% I. atr, II. hypertr			
66.39	6 hó	jobb bal											2			60:40 100% I. atr, II. norm	53:47 I. 15um, II. norm		
67.63	D8	10 hó	jobb bal	5	15								2	13 64:36	76:24		30:60		
				5								2	13 60% I. atr, 40% II. atr	40% I. atr, 20% II. atr		I, II egyf			
67.44	8 hó	jobb bal	30	40	45	20	20	0	0	3	6			80:14					
				30	30	30	20	30	0	1	3	7			50% I. atr, II. hypertr	50% I. atr, II. hypertr			
68.15	D11	12 hó	jobb	30	25	30	30	0	0	3	5	83:17			76:24	68:32			
												30% I. atr, II. hypertr	30% I. atr, II. hypertr		30% I. atr, II. hypertr				
67.77	D7	10 hó	jobb	45	40	45	30	30	0	1	2	12	64:36	69:31	33:67!	67:33			
												50%I. atr	80% I. atr	77% I.atr	45% I.atr				
67.98	D2	6 hó	jobb bal	50	40	40								2	75:25	zsíros			
				40	30	30								2	67% I.atr	atr norm	norm hyper		
65.71	D1	5 hó	jobb	30	10	30	10								2	54:46		72:24	
																60% I. atr	100% I. atr, II, hypertr		
68.10	D14	15 hó	jobb bal	20	20								3	59:41		m. ext.h.I.13:87			
				20	20								3	50% I. atr		88% I. atr, 80% II. atr			
65.28	D10	12 hó	jobb	15	10								2	50:50		50:50			
														I. 12-15um, II. 20um	I., II. norm				
67.55	D6	10 hó	jobb bal	45	45	20	45	25	1	1	2	14	79:21	66:34	44:56!				
				90	45	45	45	30	1	1	1	15	100% I., II. atr	80% I. atr, II 20um	80% I. atr, II. norm				
67.97	D4	7 hó	jobb bal	30	15	20	10	1					2	80:20	60:40 ktsz-s	50:50	56:44		
				40	25	20	30	1					2	34% I., II. atr	100% I. atr, II. norm	atr.norm.hyper	100% I.atr, II. hypertr		
67.59	D3	6 hó	jobb bal	30	10	15	5	5	1	1	1	16	76:24			31:69!	50:50		
				35	15	30	15	10	1	1	1	16	I., II. 13-20um			I., II., atr, II. hypertr	I. 6-14um, II. 20um		
66.20	5 év	jobb bal	20	30	40								1	55:45		70:30			
				20	30								1	I., II. atr. sok II.C		I.atr(6um), II. hypertr			
66.46	6 hó	jobb bal	10	10	15								2	47:53!		52:48			
				40	20	20								1	100% I. atr, II. norm, II.C		100% I. atr, II.C hypertr		
67.36	10 hó	jobb bal	10	10								2	60:40		36:64				
				25	10	20								3	I. norm, II. hypertr		100% I. atr, II.C hypertr		
65.10	5 hó	bal	90	30	90	90	20	1	1	1 16					36:64!	30:70			
													I. atr, II. norm		I. atr (5-8um), II. norm				
68.72	D13	14 hó	bal	30	25	25	30	1	0	2	13	100:0, ktsz-s fasc.atr és hypertr	43:57 II. hypertr	50:50 100% I. atr	58:42 II. norm, II.hypertr				

1–3 –5 Grafikon



2–4 –6 Grafikon

